

Querschnitt durch Wurzel spitze von *Zea Mays*. Gehirneinbettung. Hämalaunfärbung. Interferenzfilter grün, $\times 130$.

sich die Schnitte mit dem Behälter langsam auf Raumtemperatur. Sie sind nun für histochemische Untersuchungen bereit.

Die Figur zeigt einen Querschnitt durch eine Wurzel spitze von *Zea Mays* nach Gehirneinbettung. Die noch zarten Zellwände und die ersten Interzellularen des Periblems wie auch die ersten Gefäße sind gut erhalten. Bei stärkerer Vergrößerung konnten verschiedentlich Zellkerne im Stadium der Mitose beobachtet werden.

Mit Hilfe der beschriebenen Kryostatschnittechnik wurden bereits erfolgreich Versuche über die Verteilung von Mineralstoffen in Pflanzengeweben durchgeführt⁶.

Summary. A technique for cryostat sectioning of fresh plant tissues was developed. Embedding in unfixed brain pieces prevents disruption of plant tissue during freezing and sectioning. The method is now applied to histochemical studies on the distribution of minerals in plant tissues.

A. LÄUCHLI

Botanisches Institut der Universität Basel (Schweiz),
20. Dezember 1965.

⁶ Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil im pathologischen Institut der Universität Basel ausgeführt. Herrn Prof. Dr. A. WERTHEMANN möchte ich für die gewährte Gastfreundschaft bestens danken, ebenso Herrn PD Dr. W. MEIER-RUGE für wertvolle Anregungen und Fräulein V. UNTERRICKER für die Mithilfe bei der Laboratoriumsarbeit.

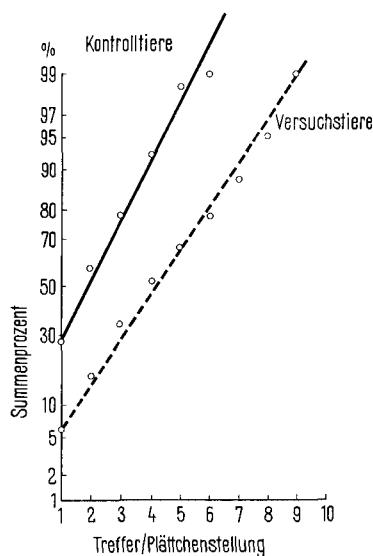
Die Treffermethode in der Messung der Parathyreozyten-Aktivität nach der Epiphysektomie

Dem DALESESCHEN Prinzip über die Verhältnisse von Flächen und Volumina an nichthomogenem Material folgend, wie auch der späteren Anwendung dieser Forderung in der Histophysiologie (HAUG¹, HENNING², KÜGELGEN und BRAUER³) nach, haben wir versucht, in ähnlicher Weise die elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Parathyreozyten nach der Epiphysektomie zu analysieren.

Als Material verwendeten wir elektronenmikroskopische Aufnahmen (Vergrößerung $\times 18000$) von Epithelkörperchen der epiphysektomierten Ratten 3 Wochen nach der Entfernung der Pinealdrüse und von Epithelkörperchen der Ratten, die dasselbe Operationstrauma ohne Entfernung der Epiphyse erlitten hatten. Die Epithelkörperchen beider Versuchsgruppen wurden in Acrolein vor- und in Osmiumtetroxyd nachfixiert und in Araldit eingebettet.

Zwecks Analyse mittels Treffermethode wurde ein quadratisches Integrationsplättchen von 2.304 mm^2 Fläche konstruiert. Dieses Plättchen hatte auf 5 Linien 25 asymmetrisch geordnete und 9.5 mm entfernte Punkte, die die Treffer darstellen. Die Entfernung der Punkte

ist so bestimmt, dass jede unabhängige Stellung des Integrationsplättchens immer mit Wahrscheinlichkeit 1, eine von 3 Zellkomponenten (Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum und Golgi-Komplex), die wir als Indikatoren der Zellaktivität voraussetzen, trifft. Diese Entfernung der Punkte ergab die Gaußsche Wahrscheinlichkeitsverteilung der Treffer. Es wurden bei epiphysektomierten



¹ H. HAUG, Z. Anat. Entw. Gesch. 118, 302 (1954).

² A. HENNING, Zeiss-Werkz. 6, 78 (1958).

³ A. v. KÜGELGEN und B. BRAUER, Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 57, 766 (1962).

mierten wie auch bei Kontrolltieren je 145 unabhängige Integrationsstellen gezählt. Folgende zytoplasmatische Komponenten wurden analysiert: Mitochondrien (M), endoplasmatisches Retikulum (E), Golgi-Komplex (G), Interzellularräume (Int), Lipidgranula (L), Sekretgranula (S), Lipofusingranula (Lf), Cilien (C) und zytoplasmatische Matrix (Mtr).

Nach beendeter Analyse verhielten sich die Relativfrequenzen der sämtlichen zytoplasmatischen Komponenten wie folgt:

	M	E	G	Int	L	S	Lf	C	Mtr
Kontrolltiere	6,4	0,7	3,0	3,9	0	3,1	0,4	0,01	82,49%
	<u>10,1%</u>								
Versuchstiere	10,02	4,0	4,8	7,5	0,2	1,5	0,5	0,2	71,28%
	<u>18,82%</u>								

Die ersten drei zytoplasmatischen Komponenten, welche als Indikatoren der Zellaktivität angenommen wurden, sind in bezug auf Trefferzahl pro Plättchenstellung am Wahrscheinlichkeitsnetz dargestellt. Aus dem Diagramm 1 ist ersichtlich, dass die Treffer in den ersten drei Komponenten Gaußsche Verteilung haben und dass bei epiphysiotomierten Ratten eine grössere Zahl der Treffer diese Komponenten haben, was hoch signifikant ist ($P < 0,001$)⁴.

Dieser Befund steht in gutem Einklang mit früheren Analysen der Epithelkörperchen nach der Pinealektomie, welche durch verschiedene Methoden gewonnen wurden⁵.

Aus unseren Integrationsanalysen von zytoplasmatischen Komponenten an elektronenmikroskopischen Aufnahmen ist ersichtlich, dass eine der lichtmikroskopischen Integrationsanalyse ähnliche Treffermethode ausführbar ist und in einer früheren Arbeit⁶ wurde von verlässlichen Ergebnissen dieser Methode bereits berichtet.

Schliesslich ist bei der Interpretation der gewonnenen Ergebnisse grosse Vorsicht notwendig, da diese lediglich im Zusammenhang mit allen anderen Analysen, die uns heute zur Verfügung stehen, interpretiert werden dürfen. Eine Analyse, die ausschliesslich mit dieser Methode begründet würde, wäre vollständig unzuverlässig.

Résumé. Par l'application de la méthode d'intégration aux points sur les clichés électronomicroscopiques, on a constaté l'hypertrophie des organelles cellulaires (mitochondries, le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi) dans les cellules parathyroïdiennes de rats sacrifiés trois semaines après l'épiphysiotomie.

R. KRSTIĆ

Institut für Histologie und Embryologie der Medizinischen Fakultät, Novi Sad (Jugoslawien), 5. November 1965.

⁴ E. WEBER, *Grundriss der biologischen Statistik* (Jena 1961).

⁵ R. KRSTIĆ, *Naturwissenschaften* 2, 40 (1965).

⁶ R. MILIN, M. ŠČEPOVIĆ und R. KRSTIĆ, VIII. Internationaler Anatomenkongress, Zusammenfassungen der Vorträge (Wiesbaden 1965), p. 80.

A Method for Perfusing Tissue Culture with an in vivo System

Rose chambers¹⁻⁴ have been modified as follows (see Figure 1): The two stainless steel plates (A and G) are 5 mm thick, 50 mm wide, and 65 mm long; the bottom coverslip (B) lies on a gasket (C) of silicon rubber (Siliastic Dow Corning Co., Midland, Mich., USA) from 1–0.1 mm thick; the top coverslip has been replaced by the 'diffusion device' (Figure 2) consisting of three components: (1) The blood-containing ring (F) is a Perspex or Makrolon plate (50 · 65 · 2.5 mm); in the centre of it is carved a 330° arc with an inner diameter of 23 mm. The carved channel is 0.5 mm deep and 1 mm wide. The two ends of the channel are connected to the exterior of the chamber by two conical holes drilled in the thickness of the plate in which are inserted the polyethylene tubes (H) connected with the artery of the animal. Four retaining holes corresponding to those of the stainless steel plates are drilled in the corners. (2) The membrane (E) separating blood from the environmental medium, lies between the channel of the above plate and the channel of the plate described below. (3) The membrane support (D) is a plate similar to the plate (F) except that its thickness is 1.5 mm and the conical tubes connecting to the exterior are absent. Alternating parts of the carved channel are completely drilled through the plate permitting the communication between the channel and the face of the plate which is in direct contact with the medium. Thus the chamber can be assembled as any other Rose chamber by inserting the 'diffusion device' instead of the top coverslip. Sterilization of the diffusion device is performed in 70%

ethanol for 24 h. After sterilization the parts are soaked for a few hours in three changes of Gey's balanced salt solution. In the described chamber, 0.6 ml of medium (or less according to the thickness of the gasket, C) are in equilibrium with the arterial circulating blood of the animal through a membrane surface of about 50 mm². The pores of the membrane can be chosen from a large series

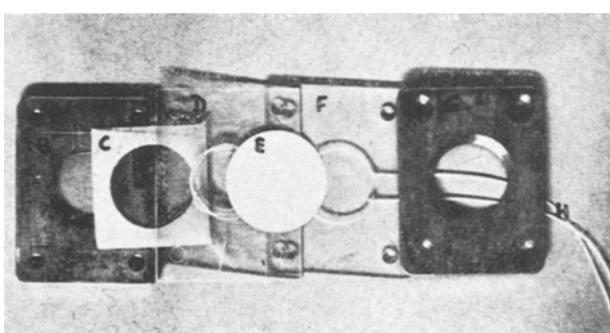


Fig. 1

¹ G. C. ROSE, C. M. POMERAT, T. O. SHLINDER, and J. B. TRUNNEL, *J. biophys. biochem. Cytol.* 4, 761 (1964).

² G. C. ROSE, *Tex. Rep. Biol. Med.* 12, 1074 (1954).

³ G. C. ROSE and C. M. POMERAT, *J. biophys. biochem. Cytol.* 8, 423 (1960).

⁴ G. C. ROSE, *Cancer Res.* 23, 279 (1963).